云 南 植 物 研 究 2001，23（3）：309～312
Acta Botanica Yunnanica

基于 5.8S rDNA 序列论三白草科的系统发育*

孟少武，李德铢**，梁汉兴
（中国科学院昆明植物研究所植物分类学研究室，云南 *”昆明 650204）

摘要：三白草科（Saururaceae）是古草本的一个核心类群，它的研究对被子植物起源和早期演化具有重要意义。本文采用最大简约法（maximum parsimony method）和邻接法（neighbor－joining method）等不同的分析方法，对三白草科及其外类群齐头绒（*Zippelia begoniaefolia* Blume）的 5.8S rDNA 序列进行分析，得到一致的结论：*Anemopsis* 最早从三白草科中分离出来，*Saururus chinensis* 和 *S. cernuus* 是一对姐妹群，由于 5.8S rDNA 序列的变异位点和信息位点相对比较少，*Gymnotheca chinensis* — *G. involucrata* — *Houttuynia* — *Saururus* 之间难以通过 5.8S rDNA 序列的比较进行分辩。

关键词：5.8S rDNA 序列；三白草科；系统学发育
中图分类号：Q 949，Q 75 文献标识码：A 文章编号：0253－2700(2001)03－0309－04

The Phylogeny of Saururaceae Based on 5.8S rDNA Sequences

MENG Shao－Wu，LI De－Zhu，LIANG Han－Xing
(*Department of Plant Taxonomy*，*Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China)

Abstract：Saururaceae is a core component of paleoherbs，and is very important for studying the origin and development of early angiosperms. By using different analysis method，such as the maximum parsimony method and the neighbor－joining method，we analyzed the 5.8S rDNA sequences of Saururaceae and the outgroup *Zippelia begoniaefolia* Blume. The conclusions are the similar，that is，*Anemopsis* departs from Saururaceae at first，*Saururus chinensis* is the sister to *S. cernuus*. However，it is difficult to differt the *Gymno theca chinensis* — *G. involucrata* — *Houttuynia* — *Saururus* clade by using 5.8S rDNA sequences.

Key words：5.8S rDNA sequences；Saururaceae；Phylogeny

三白草科（Saururaceae）是古草本类中的一个稳定成分，对研究被子植物起源和早期演化具有重要意义。它是一个古老的残存小科，现仅存 4 属 6 种，其中，有 3 属 4 种分布于东亚，2 属 2 种分布于北美，呈典型的东亚－北美间断分布。吴征镒（1957）很早就注意到三白草科在系统学研究和地理分布类型上的重要意义。

国外涉及三白草科的研究开展较早，但比较零散，很少见关于三白草科研究的系统报道。Tucker（1996）对三白草科作过较为系统的工作，她通过外部形态和花器官发育的比

---

* 基金项目：国家杰出青年基金 NSFC 39725001 及中科院百人计划 CAS［1998］0054 等项目的资助
** 通迅作者 Auther for correspondence
作者简介：孟少武（1969－）男，湖北人，在读博士研究生，主要从事植物分子系统学与分子进化方面的研究。

较，曾提出三白草科的系统发育。在我国，张遂申等主要通过营养器官的比较研究（张遂申，1985；雷立公，1991），也曾提出一个不同的三白草科的系统发育（雷立公，1991）；梁汉兴等主要通过繁殖器官的比较研究（Liang & Tucker，1990；梁汉兴，1994，1995；孟少武和梁汉兴，1995），又提出一个不同的三白草科的系统发育（梁汉兴，1995）。到目前为止，虽然运用了比较形态学、解剖学、胚胎学、细胞学等学科的许多研究方法，对表现型性状进行了较多的研究，但各国学者对三白草科各属间的系统关系仍然没有一个统一的认识。

表现型的差异归根结底应追溯到基因型的差异，即 DNA 序列上的差异（丁士友等，1996）。分子系统学主要依据 DNA 序列上的差异来比较植物的亲缘和演化关系，可以为植物系统与进化研究提供最直接的证据，为建立分类群间的自然谱系提供有力的佐证。本文尝试根据 5.8S rDNA 序列的比较来重建三白草科的系统发育。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料是三白草科所有现存的 6 种植物及其外类群齐头绒（*Zippelia begoniaefolia* Blume），它们都栽种于中国科学院昆明植物研究所植物园。

1.2 实验方法

采用改良的 CTAB 法（Doyle，1987）提取总 DNA，实验材料是新鲜叶片。

由于 5.8S rDNA 在 ITS 1 和 ITS 2 之间，故扩增 ITS 就可以得到 5.8S rDNA。扩增整个 ITS 区（含 ITS 1、5.8S 和 ITS 2）的引物为 ITS 5 和 ITS 4（White，1990）。扩增反应在 PE 公司的 9600 型 PCR 仪上进行，PCR 反应体系为 20 μL。扩增程序如下：97℃预变性 4 min，然后按下列条件循环 30 次：94℃变性 1 min，50℃复性 40 s，72℃延伸 1 min，30 个循环后在 72℃延伸 7 min。PCR 产物经 Watson's Purification Kit 纯化后直接用于测序反应。

测序反应在 PE 公司的 9600 型 PCR 仪上进行，反应体积为 5 μL。测序反应程序如下：96℃，10 min；50℃，5 min；60℃，4 s；30 个循环。在 PE 公司的 ABI 310 自动测序仪上测序。为保证所测序列的精确度，分别用引物 ITS 5 和 ITS 4 对每个片段进行正、反链测序。

使用软件 DNASTAR 的 SeqMan 程序将每对正、反链进行拼接，拼接时至少 85% 的重合率。然后根据 *Lotus arenarius*（AF218528）和 *Oryza sativa*（AF169230 和 M35384）的序列对三白草科的序列进行剪切，从而得到各个种的 5.8S rDNA 序列。然后在 MegAlign 程序中进行对位排列，得到数据矩阵。最后在 Macintosh G3 机上运用 PAUP 4.0b 4a 中最大简约法和邻接法进行分支分析。对于最大简约法，采用分枝–边界法（branch and bound）进行搜索，应用自展法（bootstrap）检验系统树，自展数据集为 500 次。对于邻接法，采用最小进化法（minimum evolution method）以及 P 式距离测量，也用自展法检验系统树，自展数据集为 500 次。

2 结果与分析

2.1 最大简约法的结果与分析

三白草科中 5.8S rDNA 的长度为 163bp 或者 164bp。当空格（gaps）被处理为缺失

(missing）时，排列后有 164 个位点，其中有 141 个位点是稳定（constant）的，20 个位点变异但无信息，仅有 3 个位点是信息位点，信息位点的百分率是 1.83%。在三白草科内，序列变异度（sequence divergences）从 0 到 9.877%。在三白草科和外类群之间序列变异度从 3.727%到 11.801%（表 1）。将矩阵用最简约法之分枝 – 边界法进行搜索，得到 15 个同等最简约树，其步长是 24，CI = 0.958，RI = 0.667，RC = 0.639。图 1 是其 50%多数一致树。根据图 1，三白草科是单系，*Anemopsis* 最早从三白草科中分离出来，是 *G. chinensis* — *G. involucrata* — *Houttuynia* — *Saururus* 支的姐妹群；*S. chinensis* 是 *S. cernuus* 的姐妹群，其一致值是 100%，其自展数据值（bootstrap value）是 66%；*G. chinensis*，*G. involucrata*，*Houttuynia* 和 *Saururus* 彼此难以分开，它们聚在一起的一致值是 87%。

表 1　三白草科植物及其外类群齐头绒 5.8S rDNA 序列的距离矩阵

Table 1 Pairwise distances between taxa. Total character differences are as the below diagonal. Mean character differences are as the above diagonal.

	1	2	3	4	5	6	7	
1	*Anemopsis*	–	0.09259	0.09259	0.09259	0.09877	0.09877	0.11801
2	*Gymnotheca chinensis*	15	–	0.00000	0.00000	0.00617	0.00617	0.03727
3	*G. involucrata*	15	0	–	0.00000	0.00617	0.00617	0.03727
4	*Houttuynia*	15	0	0	–	0.00617	0.00617	0.04321
5	*Saururus cernuus*	16	1	1	1	–	0.00000	0.04348
6	*S. chinensis*	16	1	1	1	0	–	0.04348
7	*Zippelia*	19	6	6	7	7	7	–

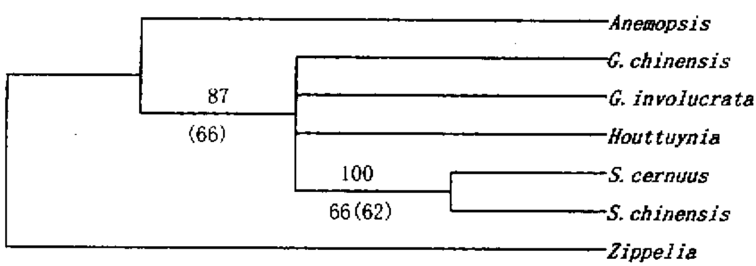


图 1　基于 5.8S rDNA 序列的三白草科植物的系统发育树（最大简约法所得）。进化支上的数值是一致值，进化支下的数值是自展数据值，括号中的数值是当空格被处理为第 5 种状态时的自展数据值。

Fig. 1　The phylogenetic tree of Saururaceae based on 5.8S rDNA sequences (Analysis by maximum parsimony method). Consensus values are indicated above branches. Bootstrap values are indicated below branches. The numbers in brackets are bootstrap values when gaps are treated as the fifth state.

当空格被处理为第 5 种状态（the fifth state）时，结果大致相同。排列后有 164 个位点，其中有 140 个位点是稳定的，21 个位点变异但无信息，仅有 3 个位点是信息位点，信息位点的百分率也是 1.83%。将矩阵用最简约法之分枝 – 边界法进行搜索，得到 1 个最简约树，其步长也是 24，CI = 1.0000，RI = 1.0000，RC = 1.0000。其最简约树的结构与图 1 完全一样。但其 *S. chinensis* — *S. cernuus* 支的自展数据值是 62%，*G. chinensis* — *G. involucrata* — *Houttuynia* — *Saururus* 支的自展数据值是 66%。

2.2 邻接法的结果与分析

邻接法所得的结果与图1大致类似，认为三白草科是单系，*Anemopsis* 最早从三白草科中分离出来，是 *Houttuynia* — *Saururus* — *G. involucrata* — *G. chinensis* 支的姐妹群；*Houttuynia* 其次从三白草科中分离出来，是 *Saururus* — *G. involucrata* — *G. chinensis* 支的姐妹群；*S. chinensis* 是 *S. cernuus* 的姐妹群；*G. chinensis*、*G. involucrata* 和 *Saururus* 彼此不能分开。该距离树的得分是0.14009。将其用自展法分析，*S. chinensis* — *S. cernuus* 支的自展数据值是67%，而 *Anemopsis* — *G. chinensis* — *G. involucrata* — *Saururus* —*Houttuynia* 支难以分开。

3 讨 论

3.1 5.8S rDNA 的系统学价值

从表1可以看出，在三白草科内，序列变异度从0到9.877%，在三白草科和外类群之间序列变异度从3.727%到11.801%；从图1可以看出，无论空格被处理为缺失还是被处理为第5状态，都可以将 *Anemopsis* 和其它的属（*Houttuynia* —*Saururus* — *Gymnotheca*）分开，并且，其一致率87%还较高，其自展数据值66%属中度支持。这说明5.8S rDNA序列对重构古老、孑遗的类群的系统发育（例如，三白草科）具有一定意义，并且还具有一定的可信度。

3.2 三白草科的系统发育

从上可知，无论采用最大简约法还是采用邻接法进行分析，都得到一致的结论，即三白草科是单系，*Anemopsis* 最早从三白草科中分离出来，是 *Houttuynia* — *Saururus* —*G. involucrata* — *G. chinensis* 支的姐妹群；*S. chinensis* 是 *S. cernuus* 的姐妹群。

3.3 *Houttuynia* 的系统位置

在邻接法分析中，*Houttuynia* 其次从三白草科中分离出来，而在最大简约法分析中，*Houttuynia* 和 *G. chinensis*，*G. involucrata*，*Saururus* 彼此不能分开，这两种分析方法在显示 *Houttuynia* 的系统位置时表现出不一致。*Houttuynia* 的系统位置有待于进一步的探讨。

〔参 考 文 献〕

丁士友等，1996. DNA水平上的植物系统学研究进展〔J〕. 西北植物学报，**16**（4）：446—456

吴征镒，1957. 云南热带亚热带地区植物区系研究的初步报告 I〔J〕. 植物分类学报，**6**（2）：183—254

张遂申，1985. 数值分类在中国三白草科属间关系上的应用〔J〕. 西北植物学报，**5**（1）：95—99

孟少武，梁汉兴，1997. 三白草科的比较胚胎学研究〔J〕. 云南植物研究，**19**（1）：67—74

梁汉兴，1994. 三白草科花部发育及其系统学意义〔J〕. 植物分类学报，**32**（5）：425—432

梁汉兴，1995. 论三白草科的系统演化和地理分布〔J〕. 云南植物研究，**17**（3）：255—267

雷立公，1991. 裸蒴属的核型及其演化关系〔J〕. 西北植物学报，**11**（6）：41—46

Doyle J J，Doyle J L，1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf material〔J〕. *Phytochem Bull*，**19**：11

Liang H X，Tucker S C，1990. Comparative study of the floral vasculature in Saururaceae. *Amer J Bot*，**77**：607—623

Tucker S C Douglas A W，1996. Floral structure，development，and relationships of Paleoherbs〔M〕：Saruma，Cabomba，Lactoris，and selected Piperales. In：Taylor D W & Hickey L J eds.，Flowering Plants Origin，Evolution & Phylogeny. New York：Chapman & Hall

White T J Bruns T. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics〔M〕. In：Innis M. *et al*. Ed. PCR Protocols：A Guide to Methods and Applications. San Diego，CA：Academic Press，315—322